取扱説明書

【測定原理】

本キットはキレート化合物を固定した固相抽出レジンと発色試薬から構成されています。固相抽出レジンに試料中の鉛（II）を結合させ、非特異物質を純水で洗浄後、硝酸により溶離、鉛（II）が濃縮されたアッセイ用検体を得ます。アッセイ検体中の鉛（II）と発色試液中のポルフィリンとキレート錯体を形成させ、可視部の発色を観測することで、鉛（II）の濃度を求めることができます。（灰化されていない試料では溶解性鉛、灰化された試料では全鉛量が定量されます。）
（本キット「メタロアッセイ テスト」シリーズは生物試料には使用できません。生物試料へ適用する場合は、メタロアッセイ LS シリーズをご使用下さい。）

【キットの内容】（合計 100 検体測定分）

A：固相抽出レジン添加チューブ

固相抽出レジン添加チューブ	100 個

*溶出液は添付されておりませんので別途調製してください。

B：発色試薬

R-A 緩衝液	5.0 mL ×1
R-B 緩衝液	40 mL ×1
R-R キレート試液	0.2 mL ×1
鉛標準液 2 mg/L	40 mL ×1

※ キットにキュベット・セル、96 穴ウエルは含まれておりません。ユーザー様で別途御用意下さい。

【試薬の準備】

溶出液：	1.3M 硝酸水溶液を調製してください。
固相抽出レジン（チューブ）：	そのままお使い下さい。
R-A 緩衝液：	そのままお使い下さい。
R-B 緩衝液：	そのままお使い下さい。
R-R キレート試液：	そのままお使い下さい。
鉛標準溶液：	そのままお使い下さい。

【測定試料の注意点】

1） 灰化、及び酸分解抽出処理をしない試料を直接適用した場合は溶解性の無機鉛濃度として求められます。全鉛量を求める場合は有機物を分解（酸分解、灰化分解）したものを適用してください。

2） 湿式灰化試料等、高濃度の硝酸、塩酸を含む試料はあらかじめ、pH 3 以上に中和するか、酸濃度が 0.1M 以下になるよう希釈したものを適用してください。

3） 湿式灰化試料は分解が不十分な場合、中間分解産物による吸着阻害（固相抽出時）を受けることがありますので、十分に分解処理された試料を適用してください

4） 本法は公定法ではありません、計量証明目的には使用できません。

5） 本法は生物試料には適用できません。生物試料を定量する場合は、弊社姉妹品のメタロアッセイ LS シリーズをご使用ください。詳細については、弊社 website を御参照下さい。

6） 本法はその得られた数値を保証するものではありません。予め対象試料の測定値、誤差、特性を確認した後、応用される際は最適パラメータを試料種ごとに検討の上、ご使用されることをお奨め致します。

【操 作】

試料の濃縮

レジン添加チューブ

① 吸 着

以下の用量で試料をレジン充填チューブに添加する。

検体種

μL	ブランク	鉛標準試料	試 料
精製水	400	-	-
鉛標準液	-	400	-
試 料	-	-	400
R-B	200	200	200

蓋を閉め、数回転倒混和、20分静置する。

3,000 rpm, 1 min, 室温

レジンを吸入しないようにピペットで
吸着液全量(400 μL)を吸入し除去する。

② 洗 浄

精製水をレジン添加チューブに400 μL添加し、遠心する。

3,000 rpm, 1 min, 室温

レジンを吸入しないようにピペットで
洗浄液全量(400 μL)を吸入し除去する。

③ 溶 出

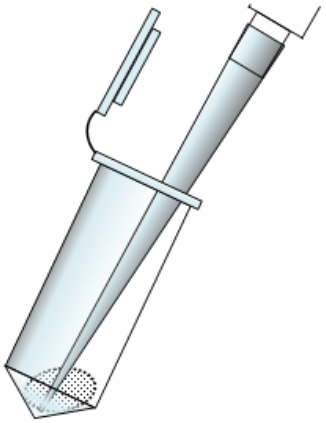
溶出液をスピンカラムに150 μL添加し、
数回転倒混和後、5分静置し遠心する。

3,000 rpm, 2 min, 室温

レジンが付着、混入しないように 100 mL の上清を回収しアッセイ検体とする。

（右図、アッセイ検体（上清）の回収方法参照）

内容液（上清）の回収方法



ピペットの先端をレジンに差し込み静かに吸入する。

（レジンの形状は吸入時にチップ内に混入しにくい針状となっています）

※ レジンの沈降は遠心分離操作を基本としていますが、遠心分離ができない場合は自然沈降させた後、緩やかに内容液を吸入してください。

※ 濃縮処理をしても着色、懸濁している試料は、アッセイ時に試料ブランク法を適用してください。詳しくは弊社 website の測定プロトコール、試料ブランク法を御参照ください。

2. アッセイ

① 測定条件（マイクロプレートリーダーの場合）

測光波長： 480 nm （476-490nm）
温度 ： 25/30/37 ℃
ウエル ： 96 穴ウエル （タンパク低吸着タイプが望ましい）

※ 注意

紫外可視分光光度計を使用してキュベットで測定する場合、**測定可能な検体数はマイクロプレートリーダー使用時と比較して少なくなります**。ダウンサイズされた微量セルを使用することで 96 穴ウエルと同等の測定数を得ることも可能です。
詳細については、弊社 website のサポート情報「紫外可視分光計 微量セル推奨品」を御参照下さい。

② アッセイ

1.の操作により濃縮処理されたアッセイ検体（試薬ブランク、2 mg/L 標準液、試料）を以下の用量・添加順で分注し、よく混合して下さい。混合後 5 分静置し、上記の測定条件でマイクロプレートリーダー（又は、紫外可視分光光度計）により測定して下さい（対照：精製水）。紫外可視分光光度計で測定する場合は、キュベットサイズに合わせて、同様の用量比で分注し、測定して下さい。

添加順　　（μL）		ブランク	鉛標準試料	試 料
1	R-A	50	50	50
2 アッセイ検体	ブランク	25	-	-
	鉛標準液	-	25	-
	試 料	-	-	25
3	R-B	170	170	170
4	R-R	2	2	2
5分静置後、476-490 nmの吸光度を測定				

【濃度の計算】

$$\text{鉛濃度 (mg/L)} = \frac{A_{Sample} - A_{Blank}}{A_{Std} - A_{Blank}} \times \frac{2}{\text{標準液濃度 mg/L}}$$

A_{Sample}：　試料の吸光度
A_{Std}：　鉛標準試料の吸光度
A_{Blank}：　ブランクの吸光度

【性　能】

・感度
精製水をブランクとして測定した時の吸光度は 0.15　以下です。試薬をブランクとして 2 mg/L の鉛標準液を測定した時の吸光度は 0.1～0.8 の範囲内です。（固相抽出適用時）

・同時再現性
同一検体を 5 回測定した時の C.V は 10%以内です。（鉛濃度が 0.06-3 mg/L の試料の側定時）

・正確性

原子吸光光度法、ジチゾン比色法と良好な相関があります。

既知濃度の鉱水試料（Pb(II) 0.05 mg/L）における測定値と表示値との誤差は 10%以内です。

・測定範囲（固相抽出適用時）

0.06～5.0 mg/L

（試料種により、0.05 mg/L 以下の試料測定時に±0.01 mg/L の誤差、及び稀に擬陽性として正の誤差を与える場合があります。この濃度以下における定量の際は、事前に試行し正確性を確認することをお奨め致します。）

・共存物質の許容範囲

100 倍量（モル濃度）の Ca(II), Mg(II), Ni(II), Al(III)は測定値へ影響を与えません。

50 倍量（モル濃度）の Cu(II)による測定値への影響は 5%以内です。

10 倍量（モル濃度）の Zn(II), Fe(II)による測定値への影響は 10%以内です。

※ 1,000 mg/L を超える過剰なアルカリ土類金属が共存する試料は固相抽出時に吸着を阻害する可能性があるので、別途、アルカリ土類金属除去能をもつカラムで前処理することをお奨め致します。

【品質保持期限と保存方法】

品質保持期限：商品包装袋及び商品外箱に表示。（製造日から 10 ヶ月間）

御購入後、冷暗所（2-8℃）で保存して下さい。

【参考文献】

1） 斎藤幹彦, 堀口大吉, 喜納兼勇, *分析化学*, 30, 635－639（1981）.

2） S. Igarashi, A. Manaka, M. Terunuma, M. Kaneki, *Analytical Letters*, 36, 11, 2393-2399（2003）

※ 表記性能は汎用されているマイクロプレートリーダー、紫外可視分光光度計を用いた場合の目安です。使用機器の型式によっては完全に一致しない場合があります。予め御了承下さい。

※ 品質に関してのお問い合わせの際は、試薬キット包装袋に貼付の Lot No.を御確認の上、お問い合わせ下さい。

※ 製品の仕様・サービス・包装形態・梱包形態は、予告なく変更する場合があります。本マニュアルに従い、適切に御使用下さい。

※ 製品の輸送・取扱い・処理・廃棄については、付属の製品安全データシート（MSDS）に従って下さい。

【製造販売業者】

AKJ グローバルテクノロジー 株式会社

千葉市中央区中央 4-5-1 Qiball 14F
TEL： 043-227-6767 FAX： 043-227-6768
e-mail： sales@ak-j.com
URL: http://ak-j.jp/

※Metallogenics™ およびメタロジェニックス ™ は、AKJ グローバルテクノロジー（株）の試薬販売ブランドです。

※メタロアッセイ ™ は、AKJ グローバルテクノロジー（株）の試薬キットの名称です。